

(19)



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets

(11) Veröffentlichungsnummer: **0 501 250 A1**

(12)

**EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**(21) Anmeldenummer: **92102449.3**(51) Int. Cl.<sup>5</sup>: **C07K 9/00, C07D 487/04,  
A61K 37/02**(22) Anmeldetag: **14.02.92**(40) Priorität: **27.02.91 DE 4106101**(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**02.09.92 Patentblatt 92/36**(54) Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IT LI LU NL SE**(71) Anmelder: **BAYER AG****W-5090 Leverkusen 1 Bayerwerk(DE)**(72) Erfinder: **Lerchen, Hans-Georg, Dr.**  
**Morgengraben 14**  
**W-5000 Köln 80(DE)**  
Erfinder: **Baumgarten, Jörg, Dr.****Henselweg 13****W-5600 Wuppertal 1(DE)**Erfinder: **Piel, Norbert, Dr.****Neuenhausstrasse 28****W-4006 Erkrath 1(DE)**Erfinder: **Lorentzen, Jens-Peter, Dr.****An der Ruthen 2****W-5000 Köln 80(DE)**Erfinder: **Antonicek, Horst-Peter, Dr.****Wiesenwinkel 14****W-5060 Bergisch Gladbach(DE)**Erfinder: **Kabbe, Hans-Joachim, Dr.****Walter-Flex-Strasse 16****W-5090 Leverkusen 1(DE)**(54) **Fucose-markierte Batracylinderivate.**

(57) Das heterocyclische Amin Batracylin zeigt ausgezeichnete Antitumorwirkung im Colon-38-Modell an der Maus; dieses Modell gilt als repräsentativ für die Wirkung gegen Dickdarmkrebs. Diese Wirkung läßt sich durch eine Markierung mit Fucose verbessern.

Die neuen Verbindungen haben die Formel:

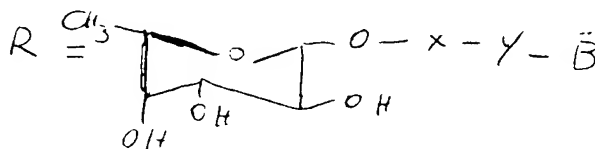
[R]<sub>n</sub>-AA<sub>1</sub>-AA<sub>2</sub>-C,

wo:

C = Batracylin

AA<sub>1</sub> und AA<sub>2</sub> = gegebenenfalls geschützte L- oder D-Aminosäuren

n = 0-2



B = Bindung oder Diacylrest einer Dicarbonsäure

$\beta$ -L-Fuc- $\omega$ -AHex-Suc-OH

Umsetzung mit Bernsteinsäureanhydrid wie in Beispiel 26

5  $\beta$ -L-Fuc- $\omega$ -AHex-Suc-Ala-Batracylin

Kupplungsreaktion wie in Beispiel 1 beschrieben  
Die Beispiele 30 und 31 werden analog hergestellt.

10 Beispiel 30

H-Glu( $\beta$ -Fuc- $\omega$ -AHex)-Ala-Batracylin

(Kupplungsbaustein: Boc-Glu-Ala-Batracylin)

15

Beispiel 31

H-Glu( $\beta$ -Fuc-pAP)-Leu-Batracylin

20 (Kupplungsbaustein: Boc-Glu-Leu-Batracylin)

Material und Methoden zur biologischen Testung

Die Zelllinie SW 480 (CCL 228) stammt aus einem humanen Adenocarcinom des Dickdarms. Sie wurde  
25 in der Zeit von 1971-1975 von A. Leibovitz isoliert und wird von ATCC in der 96. Passage geliefert.

In den Experimenten wurde sie in der 104. bis zur 111. Passage eingesetzt. Als Nährmedium diente L 15 (Gibco) mit 10 % foetalem Kälberserum (L 15/FCS 10). Die Kontrollzelllinie BHK wurde in DMEM/FCS10 Medium angezogen. Sie befand sich in der Passage 109-116.

30 Kulturbedingungen für Wachstumsinhibitionsteste

SW 480 Zellen wurden in Rouxschalen in L15/FCS10 Medium gezogen. 24 Stunden vor Gebrauch wurde das Medium gewechselt und zusätzlich 0,1 % BSA zugesetzt. Anschließend wurde typsinisiert und in MEME (Flow) unter Zusatz von 10 % FCS und 0,1 % BSA zu einer Zellzahl von 100 000 Zellen/ml  
35 aufgenommen. 100  $\mu$ l Zellsuspension/Well wurden in eine 96 Mikrowellplatte gegeben und 3 Tage bei 37°C im CO<sub>2</sub> Brutschrank inkubiert. Anschließend wurde 100  $\mu$ l MEME Medium in 1  $\mu$ l DMSO mit den Prüfsubstanzen (Glycokonjugaten) zugesetzt. Das Wachstum wurde täglich überprüft.

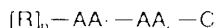
Konfluente Vorkulturen von BHK wurden trypsinisiert und in GMEM (Flow) Medium im 10 % Tryptose (Gibco), 10% Newborn Calf Serum, 0,5 % L-Glutamin-Lösung 100 x (Gibco), 0,75 % Penicillin-Streptomycin-Lösung (Gibco) und 0,1 % BSA zu einer Zellzahl von 100 000 Zellen/ml aufgenommen. 100  
40  $\mu$ l Zellsuspension/Well wurden in 96 Well/Mikrotiterplatten gegeben und 24h bei 37°C im CO<sub>2</sub> Brutschrank inkubiert.

Anschließend wurden 100  $\mu$ l GMEM-Medium und die Prüfsubstanzen in 1  $\mu$ l DMSO pro Mikrowell zugesetzt. Das Wachstum wurde täglich überprüft.

45

Wachstumsinhibitionsteste

Zu jedem Mikrowell wurde alle 24h 40  $\mu$ l MTT-Lösung (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) mit einer Ausgangskonzentration von 5 mg/ml H<sub>2</sub>O zugesetzt. Es wurde 5 Stunden im CO<sub>2</sub>  
50 Brutschrank bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde das Medium abgesaugt und 100  $\mu$ l i-Propanol/Well zugesetzt. Nach 30 min Schütteln wurde die Extinktion bei 545 nm mit einem Titertek Multiskan MCC-340 (Flow) gemessen.



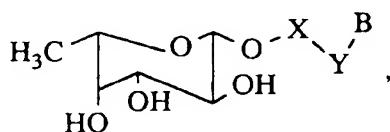
mit

C = ein Cytostatikum,

R =

5

10



X = Alkylen, Arylen

Y = CO, NH, O

B = Bindung oder Diacylrest einer Dicarbonsäure,

AA<sub>1</sub> = ein natürlicher Aminosäure-Rest in der L- oder D-Konfiguration oder Bindung

20 und

AA<sub>2</sub> = ist eine natürliche Aminosäure in der D- oder L-Konfiguration oder Bindung,

n = 0, 1, 2.

## 2. Verbindungen gemäß Anspruch 1

25 worin bedeutet

X = p-Phylen oder (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>,  
wobei m 1-20 sein kann

Y = CO, NH,

B = Bindung oder Diacylrest einer C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>-Dicarbonsäure,

n = 0, 1, 2.

30

## 3. Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1 und 2

worin bedeutet

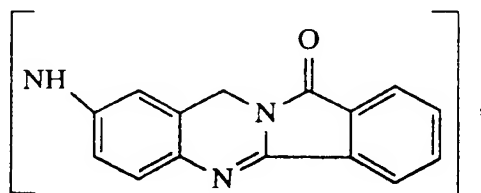
AA<sub>1</sub> = Aminosäure-Reste mit sauren oder basischen Seitenketten oder Bindung,

AA<sub>2</sub> = Aminosäure-Reste wie Ala, Val, Leu, Ile, Nva, Gly, Phe (D oder L-Konfiguration), die amidartig mit dem Heterocyclus und mit AA<sub>1</sub> verknüpft sind.

35

## 4. Verbindungen gemäß den Ansprüchen 1 bis 3 worin C für

40



45

50

steht.

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5)
A	EP-A-0 365 956 (BAYER) * Das ganze Dokument * & US-A-4 980 343 (BAYER) (Kat. D) ---	1-4	C 07 K 9/00 C 07 D 487/04 A 61 K 37/02
A	EP-A-0 359 347 (NEORX) * Ansprüche * ---	1-4	
A	THE JOURNAL OF ANTIBIOTICS, Band XLII, Nr. 12, Dezember 1989, Seiten 1823-1830, Toyko, JP; J.C. FLORENT et al.: "Synthesis and antitumor activity of new anthracyclines" * Das ganze Dokument * -----	1-4	
			RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.5)
			C 07 K C 07 D A 61 K
UNVOLLSTÄNDIGE RECHERCHE			
<p>Nach Auffassung der Recherchenabteilung entspricht die vorliegende europäische Patentanmeldung den Vorschriften des Europäischen patentübereinkommens so wenig, daß es nicht möglich ist, auf der Grundlage einiger Patentansprüche sinnvolle Ermittlungen über den Stand der Technik durchzuführen.</p> <p>Vollständig recherchierte Patentansprüche: 4  Unvollständig recherchierte Patentansprüche: 1-3  Nicht recherchierte Patentansprüche:  Grund für die Beschränkung der Recherche:</p> <p>Das Glied C der Formel im Anspruch I ist unklar definiert, deswegen wurde die Recherche nur auf C = Batracyclin beschränkt.</p>			
Recherchenort	Abschlußdatum der Recherche	Prüfer	
DEN HAAG	28-05-1992	MASTURZO P.	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN		I. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien	
<p>1. wissenschaftliche Veröffentlichungen</p> <p>2. Patente</p> <p>3. Fachzeitschriften</p> <p>4. Zeitschriften</p> <p>5. Bücher</p> <p>6. Zeitschriften</p> <p>7. Zeitschriften</p> <p>8. Zeitschriften</p> <p>9. Zeitschriften</p> <p>10. Zeitschriften</p> <p>11. Zeitschriften</p> <p>12. Zeitschriften</p> <p>13. Zeitschriften</p> <p>14. Zeitschriften</p> <p>15. Zeitschriften</p> <p>16. Zeitschriften</p> <p>17. Zeitschriften</p> <p>18. Zeitschriften</p> <p>19. Zeitschriften</p> <p>20. Zeitschriften</p> <p>21. Zeitschriften</p> <p>22. Zeitschriften</p> <p>23. Zeitschriften</p> <p>24. Zeitschriften</p> <p>25. Zeitschriften</p> <p>26. Zeitschriften</p> <p>27. Zeitschriften</p> <p>28. Zeitschriften</p> <p>29. Zeitschriften</p> <p>30. Zeitschriften</p> <p>31. Zeitschriften</p> <p>32. Zeitschriften</p> <p>33. Zeitschriften</p> <p>34. Zeitschriften</p> <p>35. Zeitschriften</p> <p>36. Zeitschriften</p> <p>37. Zeitschriften</p> <p>38. Zeitschriften</p> <p>39. Zeitschriften</p> <p>40. Zeitschriften</p> <p>41. Zeitschriften</p> <p>42. Zeitschriften</p> <p>43. Zeitschriften</p> <p>44. Zeitschriften</p> <p>45. Zeitschriften</p> <p>46. Zeitschriften</p> <p>47. Zeitschriften</p> <p>48. Zeitschriften</p> <p>49. Zeitschriften</p> <p>50. Zeitschriften</p> <p>51. Zeitschriften</p> <p>52. Zeitschriften</p> <p>53. Zeitschriften</p> <p>54. Zeitschriften</p> <p>55. Zeitschriften</p> <p>56. Zeitschriften</p> <p>57. Zeitschriften</p> <p>58. Zeitschriften</p> <p>59. Zeitschriften</p> <p>60. Zeitschriften</p> <p>61. Zeitschriften</p> <p>62. Zeitschriften</p> <p>63. Zeitschriften</p> <p>64. Zeitschriften</p> <p>65. Zeitschriften</p> <p>66. Zeitschriften</p> <p>67. Zeitschriften</p> <p>68. Zeitschriften</p> <p>69. Zeitschriften</p> <p>70. Zeitschriften</p> <p>71. Zeitschriften</p> <p>72. Zeitschriften</p> <p>73. Zeitschriften</p> <p>74. Zeitschriften</p> <p>75. Zeitschriften</p> <p>76. Zeitschriften</p> <p>77. Zeitschriften</p> <p>78. Zeitschriften</p> <p>79. Zeitschriften</p> <p>80. Zeitschriften</p> <p>81. Zeitschriften</p> <p>82. Zeitschriften</p> <p>83. Zeitschriften</p> <p>84. Zeitschriften</p> <p>85. Zeitschriften</p> <p>86. Zeitschriften</p> <p>87. Zeitschriften</p> <p>88. Zeitschriften</p> <p>89. Zeitschriften</p> <p>90. Zeitschriften</p> <p>91. Zeitschriften</p> <p>92. Zeitschriften</p> <p>93. Zeitschriften</p> <p>94. Zeitschriften</p> <p>95. Zeitschriften</p> <p>96. Zeitschriften</p> <p>97. Zeitschriften</p> <p>98. Zeitschriften</p> <p>99. Zeitschriften</p> <p>100. Zeitschriften</p>		<p>II. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>1. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>2. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>3. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>4. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>5. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>6. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>7. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>8. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>9. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>10. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>11. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>12. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>13. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>14. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>15. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>16. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>17. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>18. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>19. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>20. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>21. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>22. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>23. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>24. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>25. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>26. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>27. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>28. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>29. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>30. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>31. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>32. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>33. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>34. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>35. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>36. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>37. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>38. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>39. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>40. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>41. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>42. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>43. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>44. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>45. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>46. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>47. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>48. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>49. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>50. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>51. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>52. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>53. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>54. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>55. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>56. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>57. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>58. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>59. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>60. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>61. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>62. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>63. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>64. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>65. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>66. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>67. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>68. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>69. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>70. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>71. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>72. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>73. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>74. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>75. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>76. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>77. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>78. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>79. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>80. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>81. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>82. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>83. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>84. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>85. der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundprinzipien</p> <p>86. der Erfindung zugrunde</p>	